

Г.М. Бодненко, С.И. Курчевенко

**ОСОБЕННОСТИ ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ ОРГАНИЗМА РАБОТАЮЩИХ
В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕЙРОТОКСИКАНТОВ РАЗЛИЧНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ
ПРИРОДЫ****Ангарский филиал ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН – НИИ Медицины труда и экологии человека (Ангарск)**

Выявлены различные формы и степень выраженности иммунного ответа работающих на действие нейротоксикантов различной химической природы (пары металлической ртути, винилхлорид и дихлорэтан, эпихлоргидрин и хлористый аллил), обусловленные преимущественно спецификой химического фактора. Показана роль про- и противовоспалительных цитокинов в процессах иммунорегуляции при воздействии нейротоксикантов. Общей закономерностью изменений цитокинового профиля у лиц «группы риска» является провоспалительная направленность реакций различной интенсивности вне зависимости от воздействующего фактора. Выявлены особенности изменений иммунореактивности в зависимости от продолжительности работы (стажа) во вредных условиях труда, отражающие различные иммунные механизмы при воздействии производственных вредностей (пары металлической ртути, винилхлорид и дихлорэтан, эпихлоргидрин и хлористый аллил).

Ключевые слова: работающие, иммунологическая реактивность, нейротоксиканты

**PECULIARITIES OF IMMUNOREACTIVITY OF ORGANISM OF EMPLOYEES WORKING
IN CONDITIONS OF EXPOSURE OF NEUROTOXICANTS OF DIFFERENT CHEMICAL
NATURE**

G.M. Bodienkova, S.I. Kurchevenko

Institute of Occupational Health and Human Ecology ESSC HE SB RAMS, Angarsk

The different forms and the degree of expression of the immune responses of the employees to the exposure to the neurotoxicants of different chemical nature (metallic mercury vapours, vinyl chloride and dichloroethane, epichlorohydrin and allyl chloride), stipulated mainly by the specific character of chemical factor, were revealed. The role of pro- and anti-inflammatory cytokines in the immune regulation processes was indicated to be in the exposure to the neurotoxicants. The pro-inflammatory trend of the responses of different intensity without the dependence on the exposure factor was considered as the common change regularity of the cytokine profile in the persons of the "risk group". The peculiarities of the immunoresponsiveness changes in dependence on the working period duration (record of service) under the harmful working conditions displaying the different immune mechanisms in exposure to the harmful production substances (metallic mercury vapours, vinyl chloride and dichloroethane, epichlorohydrin and allyl chloride) were revealed.

Key words: employees, immunological responsiveness, neurotoxicants

В современный период химические загрязнители, в том числе нейротоксиканты, становятся глобальным, стабильным постоянно действующим фактором наряду с социально-экологическими, экономическими и другими факторами. Исследованиями ряда авторов показана значительная вариативность эффектов при воздействии нейротоксикантов: от начальных донозологических изменений до клинически выраженной профессиональной патологии. Важная роль при этом отводится иммунным механизмам [1]. В настоящее время накоплены убедительные данные, свидетельствующие о том, что иммунная система во многом определяет устойчивость организма к воздействию производственных факторов [4], являясь важнейшей составляющей в комплексе компенсаторно-приспособительных механизмов, обуславливающих адаптацию в целом. Как правило, ранние формы профессиональных поражений нервной системы у работающих могут оставаться клинически незаметными, что затрудняет в последующем обоснование профессиональных и профессионально обусловленных заболеваний. В связи с этим актуальным является выявление донозологических изменений в иммунной системе работающих. Это может быть

важным как для понимания иммунопатогенеза заболеваний нервной системы, так и для поиска критериев диагностики профессиональных нейротоксикаций у работающих.

В связи с вышеизложенным **целью** исследования явилось выявление общих закономерностей и особенности формирования иммунных реакций у работающих на действие различных нейротоксикантов в зависимости от продолжительности и интенсивности их воздействия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились работники предприятий по производству каустика, винилхлорида и поливинилхлорида (ВХ и ПВХ) ОАО «Саянскхимпласт» г. Саянска; эпихлоргидрина (ЭПХГ) ООО «Усольехимпром» г. Усолье-Сибирское. Для решения поставленных задач проведено обследование 388 рабочих мужского пола.

1. «Практически здоровые» мужчины — всего 97 человек (определены на основании периодического медицинского осмотра врачами клиники Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН). В том числе: 23 работающих в производстве каустика, подвергающихся воздействию паров металличе-

ской ртути. Средний стаж работы — $4,29 \pm 0,33$ лет, средний возраст — $37,0 \pm 0,36$ лет; 21 работающий в производстве ВХ и ПВХ в условиях воздействия преимущественно винилхлорида и дихлорэтана. Стаж работы — $4,4 \pm 0,5$ лет, средний возраст — $39,1 \pm 0,1$ лет; 53 работающих в производстве ЭПХГ, контактирующих преимущественно с эпихлоргидрином и хлораллилом. Стаж работы — $7,98 \pm 0,42$ лет, средний возраст — $37,2 \pm 0,2$ лет.

2. «Группы риска», всего 160 мужчин, которые находились на обследовании и лечении в клинике института: 56 работающих в производстве каустика, средний стаж работы — $17,05 \pm 1,1$ лет, средний возраст — $45,4 \pm 1,1$ лет; из них в динамике (через 2 года) обследованы 29 рабочих; 36 работающих в производстве ВХ и ПВХ. Средний стаж работы — $17,8 \pm 0,9$ лет, средний возраст — $49,9 \pm 0,9$ лет; 39 работающих в производстве ЭПХГ. Критерием включения в данную группу был стаж работы в контакте с ртутью, винилхлоридом и дихлорэтаном более 5 лет, эпихлоргидрином и хлораллилом более 10 лет и (или) наличие выявленных изменений в психоэмоциональной сфере и (или) неврологических расстройств, которые могли быть следствием воздействия нейротоксикантов на организм. Средний стаж работы — $12,0 \pm 0,9$ лет, средний возраст — $49,2 \pm 1,2$ лет.

3. С профессиональной хронической ртутной интоксикацией — 38 пациентов, находившихся на обследовании и лечении в клинике Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН с установленным диагнозом. Все обследованные ранее контактировали с парами металлической ртути (ОАО «Саянскхимпласт»: средний стаж работы — $15,7 \pm 1,7$ лет, средний возраст — $46,0 \pm 1,4$ лет; ООО «Усольехимпром»: средний стаж работы — $14,7 \pm 1,05$ лет, средний возраст — $49,1 \pm 1,1$ лет), в том числе в динамике (через 2 года) обследовано 29 пациентов с ХРИ.

В контрольную группу вошли 93 практически здоровых рабочих, сопоставимых по полу и возрасту, не имеющих в профессиональном маршруте контакта с вредными факторами.

Оценивали количество субпопуляций лимфоцитов методом непрямой поверхностной иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител производства «МедБиоСпектр» серии ИКО (г. Москва). А именно (CD3+) — маркеры зрелых Т-лимфоцитов, (CD4+) — маркеры Т-хелперов-индукторов, (CD8+) — маркеры Т-супрессоров и цитотоксических клеток, (CD16+) — маркеры NK-клеток, моноцитов, гранулоцитов, (CD20+) — маркеры В-клеток, (CD25+) — маркеры активированных лимфоцитов против рецептора интерлейкина — 2, (CD95+) — маркеры лимфоцитов, экспрессирующих Fas-антиген, (HLA-DR) — маркеры иммунокомпетентных клеток. Анализ образцов проводился на микроскопе OLYMPUS BX 51 с флуоресцентной насадкой. Определяли в сыворотке крови IgA, M, G методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем производства «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Определение сывороточных цитокинов: интерлейкина-1β

(IL-1β), интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-6 (IL-6), фактора некроза опухоли-α (TNF-α), интерферона-γ (INF-γ) проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем производства ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «Statistica 6.0». Для всех имеющихся выборок проверялась гипотеза нормальности распределения по критерию Шапиро — Уилкса. Для оценки достоверности различий между группами применяли непараметрический U-критерий Манна — Уитни.

Работа не ущемляет права и не подвергает опасности благополучия обследованных рабочих в соответствии с требованиями биомедицинской этики, предъявляемых Хельсинской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000). Исследования выполнены с информированного согласия пациентов в Ангарском филиале ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты комплексных гигиенических исследований показали, что по содержанию вредных веществ в воздухе рабочей зоны условия труда работников всех профессиональных групп в производствах каустика, ВХ и ПВХ, ЭПХГ относятся к вредным (3-й класс) 1 — 2-й степени вредности и опасности, согласно Р 2.2.2006-05 [6].

Клинико-иммунологическое обследование работающих в контакте с различными нейротоксикантами позволило выявить как общие закономерности, так и отличительные особенности нарушений в иммунной системе. Изменения показателей различной направленности и степени выраженности обусловлены преимущественно спецификой (пути биотрансформации, аллергоопасность) воздействующего производственного фактора. Сравнительная оценка средних значений IgA, M, G у работающих в контакте с нейротоксикантами различной химической природы (пары металлической ртути, винилхлорида и дихлорэтана, эпихлоргидрина и хлораллила) позволила выявить разнонаправленные изменения отдельных показателей сывороточных иммуноглобулинов (рис. 1).

В группе здоровых работающих наблюдается увеличение содержания иммуноглобулина IgA до $7,36 \pm 2,09$ мг/мл (в контроле — $2,07 \pm 0,12$ мг/мл; $p < 0,05$), а у лиц «группы риска» выявлено снижение его концентрации до $1,33 \pm 0,11$ мг/мл. У работающих в производствах ВХ и ПВХ и ЭПХГ наблюдается достоверное снижение уровня IgA как в группе здоровых работающих (до $1,38 \pm 0,05$ мг/мл и $0,96 \pm 0,04$ мг/мл соответственно; $p < 0,05$), так и в «группе риска» (до $1,42 \pm 0,11$ мг/мл и $0,95 \pm 0,09$ мг/мл соответственно; $p < 0,05$). Не исключено, что низкая концентрация IgA в крови может быть обусловлена не только снижением его продукции, но и переходом в секреты слизистых оболочек в повышенном количестве. Что касается уровня IgG, то установлено компенсаторное возрастание его концентрации у

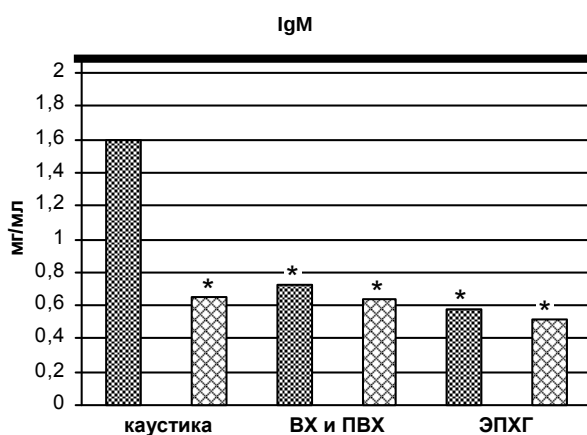
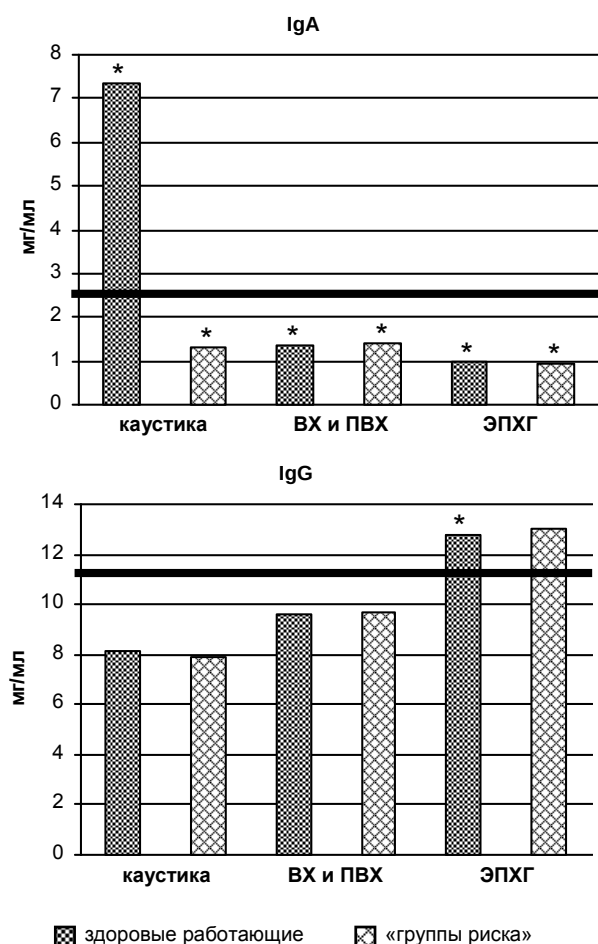


Рис. 1. Изменения отдельных показателей сывороточных иммуноглобулинов IgA, IgG, IgM.

работающих только в производстве ЭПХГ (у здоровых работающих — до $12,75 \pm 0,42$ мг/мл, в группе риска — до $13,06 \pm 1,32$ мг/мл). Увеличение уровня IgG может служить аргументом в пользу высокой антигенной нагрузки на организм работающих. Обращает на себя внимание достоверное снижение в сыворотке крови во всех группах обследуемых содержание IgM, ответственного за первичный иммунный ответ. При этом наиболее выраженное его снижение обнаружено у работающих в производствах ЭПХГ (до $0,58 \pm 0,04$ мг/мл у здоровых работающих и $0,51 \pm 0,05$ мг/мл в «группе риска»), ВХ и ПВХ (до $0,73 \pm 0,05$ мг/мл у здоровых работающих и $0,64 \pm 0,05$ мг/мл в «группе риска»). В то же время содержание IgM в группе здоровых работающих в производстве каустика составило $1,60 \pm 0,35$ мг/мл, что также достоверно ниже контрольных значений (в контроле — $2,03 \pm 0,12$ мг/мл, $p < 0,05$; в группе риска — $0,65 \pm 0,06$ мг/мл, $p < 0,01$).

Учитывая, что регуляция иммунных и воспалительных реакций осуществляется с помощью цитокинов, которые, с одной стороны, выполняют защитные функции, а с другой — участвуют в патогенезе многих заболеваний [7], нами изучен цитокиновый профиль у работающих (рис. 2). При этом установлено увеличение сывороточных концентраций провоспалительных (IL-1 β , IL-2, TNF- α) и противовоспалительного (IL-4) цитокинов.

Так, продукция IL-1 β у работающих в контакте с парами металлической ртути увеличена в 8,5 раза, у работающих в условиях воздействия винилхлорида и дихлорэтана — в 17,0 раз, при воздействии эпихлоргидрина и хлораллила — в 12,2 раза. Во всех группах обследуемых выявлено достоверное возрастание продукции цитокина IL-2 ($p < 0,05$), который играет ключевую роль в развитии иммунного ответа, являясь одним из важнейших медиаторов, выделяемых Т-клетками. Кроме того, концентрация TNF- α в сыворотке крови у работающих в контакте с винилхлоридом и дихлорэтаном увеличена до $161,26 \pm 10,82$ пг/мл, относительно контроля ($15,21 \pm 1,80$ пг/л; $p < 0,05$). У работающих в контакте с эпихлоргидрином и хлораллилом уровень TNF- α не изменялся. Следует отметить, что у лиц «группы риска», контактирующих с парами металлической ртути среднее значение показателя TNF- α увеличено до $102,18 \pm 31,94$ пг/мл относительно контроля ($p < 0,05$). При этом у пациентов с ХРИ установлены более низкие значения показателя ($42,1 \pm 11,3$ пг/мл, относительно лиц «группы риска»; $p < 0,05$). Обращает на себя внимание тот факт, что при обследовании этих же пациентов с ХРИ через 2 года установлено более выраженное снижение до $6,0 \pm 2,8$ пг/мл ($p < 0,01$), что свидетельствует о усугублении дисрегуляции в системе иммунитета у больных с ХРИ.

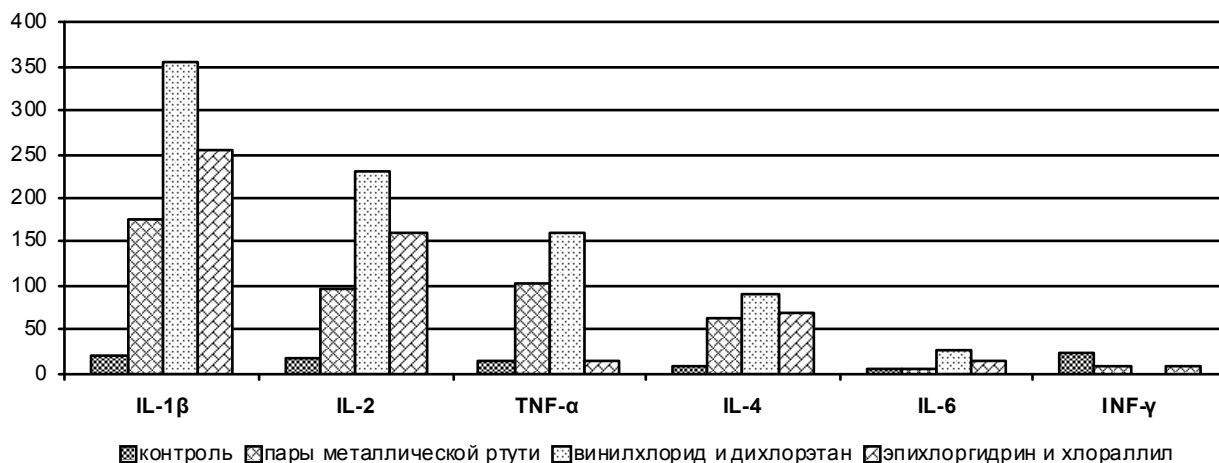


Рис. 2. Цитокиновый профиль у работающих.

Сывороточная концентрация IL-6 у лиц «группы риска» работающих в условиях воздействия хлорированных углеводородов (винилхлорида и дихлорэтана, эпихлоргидрина и хлораллила) увеличивалась до $27,15 \pm 5,03$ пг/мл и до $13,13 \pm 0,93$ пг/мл соответственно (в контроле — $6,72 \pm 0,95$ пг/мл; $p < 0,05$). У работающих в контакте с парами металлической ртути содержание IL-6 в сыворотке крови не изменялось.

Параллельно усилению продукции провоспалительных цитокинов обнаружено компенсаторное возрастание уровня противовоспалительного IL-4 у работающих в производстве каустика до $62,32 \pm 10,83$ пг/мл, в производствах ВХ и ПВХ — до $91,66 \pm 26,58$ пг/мл и в производстве ЭПХГ — до $68,43 \pm 34,15$ пг/мл относительно контроля ($10,01 \pm 3,04$ пг/мл ($p < 0,01$)). Особого внимания заслуживает факт достоверного снижения INF-γ во всех группах обследованных относительно группы контроля, что на фоне повышенной продукции провоспалительных цитокинов может способствовать иммуносупрессии.

Анализируя представленные материалы, следует отметить провоспалительную направленность изменений различной степени выраженности вне зависимости от воздействующего фактора. При этом более выраженное напряжение компенсаторно-приспособительных реакций у работающих при

воздействии ртути. Усиленная продукция цитокинов способствует защите организма и желательна на начальных этапах воспаления, однако положительная роль этого процесса становится проблематичной в тот момент, когда степень активации перестает быть адекватной, и первоначально защитный механизм перерастает в патологический процесс [2].

Выявленные формы реагирования организма не являются стабильными, дальнейший исход их зависит от условий воздействия неблагоприятных факторов. Ярким подтверждением этого являются установленные зависимости между выраженностью изменений иммунологических показателей и стажем работы (рис. 3). Для анализа взяты группы рабочих со стажем работы во вредных условиях от 1 года до 15 и более лет.

Изменения в иммунной системе в зависимости от продолжительности (стажа) работы при воздействии паров металлической ртути характеризовались увеличением синтеза IgA до $7,36 \pm 2,09$ мг/мл в первые годы работы (1–4 года) с последующим снижением через 10–14 лет работы до $3,72 \pm 1,49$ мг/мл. Заслуживает внимания тот факт, что у стажированных работающих (со стажем 15 и более лет) выявлено возрастание указанного показателя до $13,94 \pm 3,20$ мг/мл. Можно предположить, что, нака-

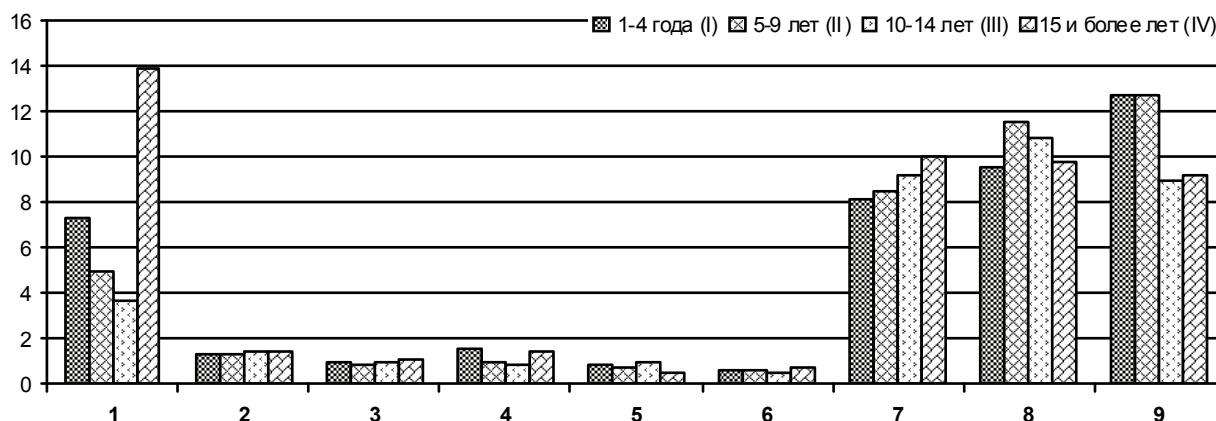


Рис. 3. Зависимости между выраженностью изменений иммунологических показателей и стажем работы.

пливаясь в слизистых оболочках [5], выполняя при этом защитную функцию, при продолжающемся воздействии происходят более глубокие изменения в слизистых с высвобождением IgA, что подтверждается развитием заболеваний верхних дыхательных путей, ЖКТ и других заболеваний. Одновременно происходит снижение концентрации IgM в 2 раза через 10–14 лет работы с последующим повышением его у высокостажированных рабочих. Кроме того, следует отметить, что у этих же работающих наблюдается возрастание продукции АТ к белку S-100 до $2,38$ усл. ед., против контроля ($1,06 \pm 0,32$; $p < 0,05$) и АТ к ДНКн до $2,25$ усл. ед. в первые 4 года работы, против контроля ($1,24 \pm 0,97$; $p < 0,05$) с последующим снижением более чем в 2 раза по мере увеличения стажа работы. Большая вариабельность концентраций аутоантител у рабочих свидетельствует об адаптивных возможностях организма в регуляции гомеостаза. Расширение предела физиологического отклонения делает грань между физиологической реакцией и патологией хрупкой, прозрачной, увеличивая риск для лиц, менее приспособленных к дискомфортным условиям [3].

При воздействии хлорированных углеводов уровень IgA оставался низким и достоверно не изменялся в зависимости от стажа работы. Что касается уровня IgM, то средние значения показателя оставались также ниже контроля во все сроки наблюдения. При этом у работающих в производствах ВХ и ПВХ отмечено более выраженное снижение концентрации IgM через 15 и более лет. Содержание IgG в меньшей степени подвержено изменению в зависимости от стажа работы. Лишь у работающих в производстве ЭПХГ установлено снижение его продукции через 10–14 лет работы до $9,01 \pm 1,23$ мг/мл против $12,72 \pm 0,90$ мг/мл в первые 4 года. Анализ полученных данных позволил выявить особенности изменений в иммунной системе у работающих в зависимости от стажа работы в контакте с различными химическими соединениями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, обобщая представленные материалы, можно заключить, что воздействие нейротоксикантов на работающих неизбежно индуцирует цепь компенсаторно-приспособительных процессов. Выявленная у работающих первичная активация иммунокомпетентных клеток в зависимости от ряда внешних и внутренних факторов (специфика производственного фактора, интенсивность, продолжительность воздействия) имеет различные исходы. В отдельных случаях (при благоприятных условиях) устанавливается состояние физиологической адаптации, когда изменения отдельных показателей не превышают функциональные возможности организма. Продолжительное и интенсивное

воздействие способствует развитию вторичных иммунодефицитных, аутоиммунных состояний, лежащих в основе развития любой патологии, в том числе и профессиональной. Показана роль про- и противовоспалительных цитокинов в процессах иммунорегуляции при воздействии нейротоксикантов. Общей закономерностью изменений цитокинового профиля у лиц «группы риска» является провоспалительная направленность реакций различной интенсивности вне зависимости от воздействующего фактора. Совокупность полученных результатов позволяет заключить, что воздействие паров металлической ртути оказывает более выраженное воздействие на иммунную систему и в более короткие сроки (нарушение баланса иммуноглобулинов, цитокинов). Выявлены особенности изменений иммунореактивности в зависимости от продолжительности работы (стажа) во вредных условиях труда, отражающие различные иммунные механизмы при воздействии производственных вредностей (пары металлической ртути, винилхлорид и дихлорэтан, эпихлоргидрин и хлористый аллил).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бодиевкова Г.М. Иммунологические аспекты экологически обусловленной и профессиональной патологии в Восточно-Сибирском регионе // Мед. труда и пром. экология. — 2006. — № 8. — С. 14–19.
2. Лысикова М., Вальд М., Масиновски З. Механизмы воспалительной реакции и воздействие на них с помощью протеолитических энзимов // Цитокина и воспаление. — 2004. — Т. 3, № 3. — С. 48–53.
3. Лютфалиева Г.Т., Чуркина Т.С. Роль аутоантител в адаптивных механизмах регуляции функциональной активности тиреоидных гормонов и тиротропного гормона гипофиза у жителей севера // Экология человека. — 2010. — № 10. — С. 33–36.
4. Особенности иммунитета и эффективность иммунокоррекции у «пожилых работников» химической промышленности (на примере производства оргстекла) / А.В. Литовская, Т.В. Шмакова, Е.Е. Шипова, И.В. Федотова // Бюлл. Научного совета «Медико-экологические проблемы работающих». — 2006. — № 3. — С. 38–44.
5. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. — М.: Изд-во ВНИРО, 1995. — 219 с.
6. Шаяхметов С.Ф., Дьякович М.П., Мещакон Н.М. Оценка профессионального риска нарушений здоровья работников предприятий химической промышленности // Медицина труда и промышленная экология. — 2008. — № 8. — С. 27–33.
7. Analysis of cytokine regulators inducing interferon production by mouse uterine natural killer cells / J.H. Zhang, H. He, A.M. Borzychowski [et al.] // Biol. Reprod. — 2003. — Vol. 69. — P. 404–411.

Сведения об авторах

Бодиевкова Галина Михайловна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией иммунологии Анггарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН (665827, г. Анггарск, 12-А мкр., 3; тел.: 8 (3955) 55-75-66, 8 (3952) 55-40-92; e-mail: immun11@yandex.ru, imt@irmail.ru)

Курчевенко Светлана Ивановна — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии Анггарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН (тел.: 8 (3955) 55-75-66; e-mail: immun11@yandex.ru, svetlanakurchevenco@mail.ru)